



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
GRIGORE T. POPA IAȘI

**BIOCHEMICAL INVESTIGATIONS – THE PREMISE
IN BASIC INTERDISCIPLINARY AND CLINICAL
MEDICAL STUDIES**

Habilitation thesis

Daniela Cristina DIMITRIU M.D. Ph.D.

Iași, 2021

REZUMAT

Elaborarea unei teze de abilitare în contextul etimologiei cuvântului *habilitare* "a se potrivi" impune prezentarea, dar mai ales demonstrarea capacității aspirantului de a dovedi prin descrierea cumulativă a muncii sale că aceasta are suficientă consistență academică și științifică pentru a i se conferi *venia legendi*.

Conținutul acestei teze descrie preocupările și realizările mele științifice, profesionale și academice din perioada postdoctorală, dar și o parte din proiectele de viitor care au prins déjà contur și vor avea finalitate în anii ce vor urma. Structurarea acestei teze este realizată în conformitate cu recomandările Consiliul Național de Atestare a Titlurilor, Diplomelor și Certificatelor Universitare și metodologiei Școlii Doctorale a Universității "Grigore T. Popa" din Iași.

Prezentarea lucrării are ca început rezumatul conținutului, urmată de prezentarea cercetărilor, publicațiilor și a proiectelor de cercetare în care am fost implicată, fiind continuată cu descrierea proiectelor mele viitoare armonizând cei patru piloni ai formării mele profesionale: academic, cercetare științifică, activitate didactică și medicală.

Secțiunea I este structurată pe patru capitole și descrie cercetările realizate, rezultatele obținute și modalitatea de diseminare a rezultatelor.

Primul capitol prezintă rezultatele a cinci studii realizate împreună cu colectivele de cercetare de la Institutul de Chimie Macromoleculară "Petru Poni" din Iași și de la Departamentul de Științe Biomedicale al Facultății de Bioinginerie Medicală. În aceste studii au fost formulate și sintetizate noi membrane celulozice și de poliuretan pentru practica medicală.

După sinteza propriu-zisă, au fost efectuate o serie de teste pentru caracterizarea lor fizico-chimică, teste de biocompatibilitate, care au urmărit capacitatea de adsorbție a albuminei/proteinelor, teste de hemocompatibilitate, de citototoxicitate *in vitro* și *in vivo* și teste de potențial oxidativ.

În urma studiilor efectuate am apreciat că noii compuși sintetizați au o biocompatibilitate superioară și o adaptabilitate funcțională la contactul cu sângele datorită proprietăților lor cumulate, cum ar fi elasticitatea, hidrofilicitatea, neutralitatea suprafeței, adsorbția raportului albumină/fibrinogen mai mare, precum și datorită capacității oxidative reduse.

În capitolul al II-lea sunt abordate din perspectivă diagnostică, prognostică și terapeutică aspectele stresului oxidativ la nou-născuții cu asfixie. Studiile pe acest domeniu, de pionierat pentru România, au fost realizate în cadrul secției de anestezie și terapie intensivă din cadrul Spitalului de Obstetrică și Ginecologie "Cuza Vodă" din Iași, având acordul Comisiilor de Etică ale spitalului și ale Universității "Grigore T. Popa" din Iași.

Am abordat studierea impactului speciilor reactive de oxigen și modificările enzimelor implicate, în cazul asfexiei neonatale întrucât, conform datelor din literatură, asfexia perinatală, cu cea mai frecventă și severă complicație a sa, encefalopatia hipoxic ischemică (EHI), este principala problemă care poate apărea la naștere indiferent de modul de producere a acesteia (naturală sau prin cezariană).

Consecința majoră a EHI o constituie afectarea neurologică a nou-născuților cu răspunsuri clinice nefaste pe termen mediu și lung asupra calității vieții acestor copii. Găsirea unui panel de teste, care, împreună cu examenul clinic și tehnicile de ventilație aplicate, să contribuie la direcționarea clinicianului către cea mai bună decizie terapeutică, au constituit principala direcție de studiu. În urma studiilor efectuate am standardizat și am validat metodele pentru dozarea activității principalelor enzime implicate în neutralizarea speciilor reactive de oxigen, precum și pentru activitatea enzimelor markeri în evaluarea neurologică.

Rezultatele obținute au fost folosite în monitorizarea activității enzimatice în cazul deciziilor terapeutice prin utilizare de fenobarbital și eritropoetină în cazul nou-născuților cu

diverse grade de asfixie. Întrucât o parte din suferința nou-născutului este cauzată și de anumiți factori materni, am evaluat capacitatea de apărare antioxidantă a serului matern comparativ cu cea a nou-născutului în cazul retardului de creștere intrauterină acompaniat în cele mai multe cazuri de asfixie.

Capitolul următor prezintă suma cercetărilor privind evaluarea markerilor biochimici utili în monitorizarea și, mai ales, în predicția precoce a unei patologii frecvente în obstetrică, respectiv preeclampsia. Deoarece subiectul prezintă numeroase valențe etio-patogenice, în lumina cărora s-au modificat și metodele de abordare terapeutică cu accent pe partea de prevenție și predicție, am analizat implicarea factorilor angiogenici în homeostazia endoteliului vascular, rolul determinării nivelului PlGF (factorul de creștere placentar), – sFlt-1 (izoforma solubilă a Flt-1, receptorul transmembranar al factorului de creștere a endoteliului vascular), precum și raportul dintre aceștia.

O preocupare intensă a mea și a unor colegi clinicieni din specialitatea cardiologie a fost îndreptată asupra pacientului cu sindrom cardiometabolic, realizând trei studii pe care le-am prezentat în ultimul capitol.

Prin cercetările realizate am putut stabili corelații între parametrii electrofiziologici, biochimici și manifestările clinice la pacientul cu sindrom cardiometabolic, evidențiind importanța testării nivelului de sLDL (small LDL), particule cu potențial aterogen superior și marker de predicție pentru boala coronariană superior LDL-ului. Datorită implicațiilor majore asupra sănătății pacienților cu sindrom cardiometabolic am cercetat prezența unor polimorfisme la nivelul genei LPL (lipoprotein lipazei), primul realizat în România, cu scopul depistării și calculării frecvenței acestor polimorfisme în populația din nord-estul României.

Secțiunea a doua a tezei prezintă principalele mele preocupări de cercetare și dezvoltare acestea fiind structurate pe trei direcții strâns legate de activitatea mea educațională, pro-fesională și academică: studiile de biochimie moleculară, proteomică și genomică cu aplicații clinice directe la nou-născuți, gravide și la pacienți cu patologii oncologice.

Referințele bibliografice aferente studiilor prezentate și concluziile, care sumarizează temele, prezentate încheie lucrarea.

ABSTRACT

The elaboration of an habilitation thesis having in view the etymology of the word habilitation "to fit" requires the presentation, but especially the demonstration of the aspirant's ability to prove by the cumulative description of their work that they have enough academic and scientific consistency to confer them *venia legendi*. The contents of this thesis describes my scientific, professional and academic concerns and achievements in the postdoctoral period, but also some of the future projects that have already taken shape and will have finality in the years to come.

This thesis is structured in accordance with the recommendations of the National Council for Acknowledgement of University Degrees, Diplomas and Certificates and the methodology of the Doctoral School of "Grigore T. Popa" University Iași.

The presentation of the paper begins with a summary of the contents, followed by the presentation of the research, publications and research projects in which I was involved, then it continues with the description of my future projects harmonizing the four pillars of my training: academic, scientific research, teaching and medical.

Section I is structured in four chapters and describes the research carried out, the results obtained and the way in which the results are disseminated.

The first chapter presents the results of five studies conducted together with the research teams from "Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry in Iași and from the Biomedical Sciences Department within the Faculty of Medical Bioengineering.

In these studies, new cellulosic and polyurethane membranes were formulated and synthesized for medical practice. After the actual synthesis, a series of tests were performed for their physical-chemical characterization, biocompatibility tests that monitored the absorption capacity of albumin/proteins, hemocompatibility tests, *in vitro* and *in vivo* cyto-toxicity tests and potential oxidative tests.

Following the studies we found that the new synthesized compounds have superior biocompatibility and functional adaptability to contact with blood due to their cumulative properties such as elasticity, hydrophilicity, surface neutrality, higher albumin/ fibrinogen absorption, and due to the reduced oxidative capacity.

The second chapter addresses from a diagnostic, prognostic and therapeutic perspective the aspects of oxidative stress in newborns with asphyxia. The studies on this field, pioneering for Romania, were carried out in the anesthesia and intensive care unit at "Cuza Vodă" Obstetrics and Gynecology Hospital of Iași, with the agreement of the Ethics Commissions of the hospital and of "Grigore T. Popa" University of Iași.

We approached the study of the impact of reactive oxygen species and changes in the enzymes involved in neonatal asphyxia because, according to literature, perinatal asphyxia, with its most common and severe complication, hypoxic ischemic encephalopathy (HIE), is the main problem that may occur at birth regardless of how it is produced (natural or by cesarean section).

The major consequence of HIE is the neurological impairment of newborns with adverse clinical responses in the medium and long term on the quality of life of these children. The main study directions were finding a panel of tests, which, applied together with the clinical examination and the ventilation techniques, could help directing the clinician to the best therapeutic decision.

Following the performed studies, we standardized and validated the methods for dosing the activity of the main enzymes involved in the neutralization of reactive oxygen species, as well as for the activity of marker enzymes in neurological evaluation.

The obtained results were used to monitor the enzymatic activity in the case of therapeutic decisions by using phenobarbital and erythropoietin in the case of newborns with various degrees of asphyxia. Since part of the newborn's suffering is also caused by certain maternal

factors, we evaluated the antioxidant defense capacity of the maternal serum compared to the one of the newborn in the case of intrauterine growth retardation accompanied in most cases of asphyxia.

The following chapter presents the sum of research on the evaluation of biochemical markers useful in monitoring and, especially, in the early prediction of a common pathogenesis in obstetrics, respectively preeclampsia. As the subject has numerous etiopathogenic valences, in the light of which the methods of therapeutic approach with emphasis on prevention and prediction have changed, we analyzed the involvement of angiogenic factors in vascular endothelial homeostasis, the role of determining PGF (placental growth factor), – sFlt-1 (soluble isoform of Flt-1, the transmembrane receptor for vascular endothelial growth factor), as well as the ratio between them.

An intense concern of mine and of some clinician colleagues in the field of cardiology was directed to the patient with the cardiometabolic syndrome, conducting three studies that we presented in the third chapter.

Through research we were able to establish correlations between electrophysiological and biochemical parameters and clinical manifestations in patients with the cardiometabolic syndrome, pointing out the importance of testing the level of sLDL (small LDL), particles with higher atherogenic potential and predictive marker for coronary heart disease.

Due to the major implications on the health of patients with cardiometabolic syndrome, we investigated the presence of polymorphisms in the LPL gene (lipoprotein lipase), the first performed in Romania, in order to detect and calculate the frequency of these polymorphisms in the population of North-Eastern Romania.

The second section of the thesis presents my main research and development concerns as it is structured in three directions closely related to my educational, professional and academic activity: molecular, proteomic and genomic biochemistry studies with direct clinical applications in newborns, pregnant women and patients with oncological pathologies.

The bibliographic references related to the presented studies and the conclusions that summarize the presented topics conclude the paper.